



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA –
PIBIC**

**EVOLUÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E CONSERVAÇÃO: AMPLIANDO OS
HORIZONTES DA MACROECOLOGIA E BIOGEOGRAFIA NEOTROPICAL**
Evolução de adaptações fisiológicas em anfíbios anuros

Área do conhecimento: Ciências Biológicas
Subárea do conhecimento: Ecologia
Especialidade do conhecimento: Macroecologia

Relatório Final
Período da bolsa: de (08/18) a (07/19)

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PIBIC/COPEs

Orientador: Prof. Dr. Sidney Feitosa Gouveia

Autor: Marcos Vinícios Rodrigues dos Santos



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
2. Objetivos	4
3. Metodologia	5
4. Resultados e discussão	6
5. Conclusões.....	12
6. Perspectivas de trabalhos futuros	12
7. Referências bibliográficas	13
8. Outras atividades	15
9. Apêndice.....	16

1. Introdução

A ecofisiologia busca entender a interação entre o ambiente e a fisiologia dos organismos. O grande interesse dessa ciência é entender como os organismos funcionam em resposta às condições do meio e suas possíveis mudanças. Todo organismo precisa manter uma condição de estabilidade do meio interno com a finalidade de sobreviver e prosperar. Tal condição, também conhecida como homeostase, é alcançada não só por meios fisiológicos, mas também por respostas comportamentais apropriadas (Pianka 1978). Os atributos fisiológicos, tal qual outras características dos organismos, estão sujeitos aos mecanismos evolutivos, que atuam na variabilidade desses atributos (Garland 1995). Recentemente, a investigação da diversidade fisiológica e seus padrões evolutivos em grandes escalas têm sido abordadas por um novo campo do conhecimento, chamado de Macrofisiologia. A Macrofisiologia permite investigações da variação fisiológica, sua evolução e consequências disso sobre a ecologia da espécie, ao longo de grandes escalas seja geográfica ou evolutiva. Estes padrões envolvem a influência de contrastes climáticos de grandes escalas ou se em algum momento de toda história evolutiva o ambiente alterou alguma característica de determinado organismo e, portanto, são imperceptíveis em pequenas escalas (Chown et al. 2004).

Um dos principais problemas para um determinado grupo, anfíbios, por terem conquistado o ambiente terrestre é a perda de água por evaporação através da pele. A água é um fator limitante para os seres vivos, inclusive para anfíbios, uma vez que dependem dela para realizar processos fisiológicos importantes como osmorregulação, termorregulação e respiração (Tracy 1975-1976, Ruibal 1962, Shield e Bentley 1973, Vitalis 1990). Apesar disso, os anfíbios persistem em determinados ambientes a partir do comportamento de seleção de micro-habitat (Shoemaker et al. 1989, Tracy e Christian 2005, Navas 1996). Em anfíbios, especialmente anuros, tais preferências de micro-habitat podem estar relacionadas com a variedade de atributos funcionais como tamanho do corpo (Tracy et al, 2010) e resistência cutânea (Lillywhite 2006 e suas referências). Estes atributos conferem uma vantagem no que diz respeito à capacidade de conservar água já que anuros possuem pele permeável (Bentley e Yorio 1976, Bentley e Main 1972) e são sensíveis à desidratação (Spotila e Berman 1976, Loveridge 1970).

Uma consequência em macroescala das adaptações relacionadas à conservação de água em anfíbios é a existência e gradiente geográfico do tamanho corporal entre anfíbios (Nevo 1973; Olalla-Tárraga et al. 2009; Gouveia e Correia 2016). De acordo com essa ideia, quanto maior o animal, mais água ele pode conservar, pois ele perde menos água devido à sua menor superfície relativa ao seu volume (i.e., menor razão superfície-volume). Consequentemente, regiões com mais secas (maior evapotranspiração potencial) tendem a selecionar organismos maiores, enquanto organismos menores tendem a ser favorecidos em áreas com maior disponibilidade de água, por exemplo, zonas húmidas. Porém, essa hipótese não explica totalmente a variação de tamanhos corporais entre anfíbios, como as espécies aquáticas e semiaquáticas, uma vez que a disponibilidade não é um problema para elas. Portanto, outros fatores devem estar associados à evolução do tamanho corporal em anfíbios, tais como pressão de predadores, competição, dimorfismo sexual, entre outros (Wells 2007; Gouveia e Correia, 2016).

A resistência cutânea parece também seguir um padrão de adaptação do balanço hídrico de anuros às condições abióticas. Grandes valores de resistência parecem ser selecionados positivamente em animais menores a fim de conferir uma adaptação à desvantagem da razão superfície-volume, ou seja, a partir de uma abordagem filogenética comparativa pode-se observar uma tendência de coevolução entre os dois atributos (Titon, 2015), porém diferentes resultados podem ser obtidos das relações entre esses atributos fisiológicos (Young et al. 2005; Tracy 2005) e serem refletidos, por exemplo, pela representatividade filogenética (Titon 2017). Recentemente, Gouveia et al. (2019) propuseram que a combinação dos valores de tamanho corporal e resistência cutânea podem refletir nas tendências geográficas nestas características ao longo de um gradiente de desidratação em nível intraespecífico. Portanto, ainda é necessário entender o contexto evolutivo da evolução desses atributos fisiológicos em escalas filogenéticas mais profundas e como esses atributos se relacionam evolutivamente (Young et al. 2005).

2. Objetivos

Objetivo geral

Neste estudo, investigamos como a evolução de adaptações relacionadas à economia de água em anfíbios anuros, especificamente o tamanho corporal e a

resistência cutânea, as quais estão diretamente relacionadas ao uso de micro-habitats nesses animais.

Objetivos específicos

- i. Investigar os padrões de evolução do tamanho corporal e da resistência cutânea entre anfíbios anuros;
- ii. Testar a presença de sinal filogenético nos atributos fisiológicos;
- iii. Testar a correlação evolutiva entre esses atributos;

3. Metodologia

Inicialmente, buscamos informações de massa corporal (g) e de resistência cutânea ($\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$) de anfíbios a partir de um levantamento bibliográfico (Apêndice 1). Além disso, outras informações foram fornecidas por colaboradores, incluindo o Prof. Dr. Carlos Navas do Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências (USP) e Prof. Dr. Denis Andrade, do Departamento de Zoologia (UNESP).

Para descrever as relações evolutivas entre as espécies, utilizamos a árvore filogenética atualmente mais completa para o clado, mantendo apenas as espécies que possuem dados dos atributos fisiológicos investigados (Pyron e Wiens 2011). Para isso, utilizamos o pacote ape (Paradis, 2012) no Software livre R (Development Core Team 2011).

Para investigar o modo evolutivo e as relações entre os atributos ao longo da filogenia entre as espécies, utilizamos métodos filogenéticos comparativos (Felsenstein, 1985). Estudamos a evolução dos atributos fisiológicos entre linhagens através de reconstrução de estados ancestrais (Paradis, 2012). Essa técnica permite mapear comparativamente as mudanças de caracteres massa e resistência na filogenia a partir da inferência dos estados ancestrais ao longo das ramificações da árvore filogenética utilizando a função contMap do pacote phytools (Revell 2012, 2013) no programa R.

Além disso, testamos o sinal filogenético de cada atributo utilizando o lambda λ de Pagel (Pagel, 1998) para avaliar o quanto espécies próximas filogeneticamente são parecidas, utilizando o pacote phytools. Valores de λ próximos a um indicam estrutura filogenética como esperada por movimento browniano (portanto com sinal filogenético), enquanto valores próximos a zero indicam ausência de ou baixa estrutura filogenética. Essa etapa é fundamental para investigar a relação entre atributos por causa da premissa em estatística de que nossas análises devem ser realizadas com dados independentes entre si.

A relação entre tamanho e resistência foi testada através da regressão filogenética (Pagel 1997), que incorpora o valor de λ para um ajuste das variáveis, neste caso massa e resistência, devido à ancestralidade comum e o compartilhamento de tais variáveis entre os clados (Hansen e Orzack 2005). Essa análise foi executada com o auxílio da função `pgl`s do pacote `caper` (Orme, 2011).

Finalmente, investigamos a existência de mudanças nas taxas evolutivas dos atributos fisiológicos avaliados ao longo da árvore filogenética. Para isso, utilizamos o método o qual permite recuperar a taxa de evolução da forma para todos os ramos da árvore a partir da função `RRphylo` e verifica a existência de mudanças na taxa evolutiva dos traços a partir da função `search.shift` e contrasta valores de taxas de ramificações individuais (espécies) com a taxa calculada para toda árvore a partir da função `plotRates`, todas funções do pacote `RRphylo` no software R recentemente proposto por Castiglione et al. (2019).

4. Resultados e discussão

No total foram coletados dados de 118 espécies (Tabela 1, ver também Apêndices). Os valores de tamanho corporal variaram entre 0,23 g (*Litoria micrabelos*) a 94,85 g (*Rhinella icterica*) com média de $11,19 \pm 14,57$. Já os valores de resistência cutânea variaram entre $0,45 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ (*Litoria moorei*) a $404 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ (*Chiromantis rufescens*) com média de $27,07 \pm 77,81$. O gênero *Litoria* foi o melhor representado na árvore representado, com 27 espécies.

O valor do λ de Pagel para o sinal filogenético em todo o grupo foi significativa tanto para massa ($\lambda = 0,5392$, $p < 0,05$) quanto para a resistência cutânea à perda de água ($\lambda = 0,9999$, $p < 0,05$). Grande parte dos clados apresentaram valores de resistência cutânea similares (Figura 1), que pode ser explicado pelo sinal filogenético.

Para massa corporal (Figura 2), outros estudos mostram valores bastante variáveis de sinal filogenético, indicando que o modo evolutivo desse atributo parece depender da escala evolutiva e de diferentes pressões seletivas (e.g., Moen e Wiens 2009; Gouveia e Correia 2016). Para a resistência cutânea, poucos estudos foram feitos analisando esse atributo em um contexto filogenético (e.g., Tracy e Christian 2005; Young et al. 2005). Tracy e Christian (2005) encontraram alta similaridade entre espécies próximas quanto à resistência cutânea, o que é indicativo de elevado conservatismo filogenético, semelhante ao encontrado neste estudo. Contudo, o estudo anterior incluiu 12 espécies, as quais também foram incluídas em nosso estudo, que abrangeu 118 espécies, sendo, portanto, o mais completo até o momento sobre o sinal filogenético de resistência cutânea. De modo geral, esses resultados de sinal filogenético encontrados indicam que a massa é um atributo mais lábil e que a resistência cutânea é evolutivamente mais conservada, sugerindo que o tamanho corporal poderia ser um

atributo com maior susceptibilidade a responder evolutivamente a mudanças ambientais. Vimos ainda que altas resistências apresentam polifiletismo, assim como observado em outros trabalhos (Tracy e Christian 2005; Young et al. 2005).

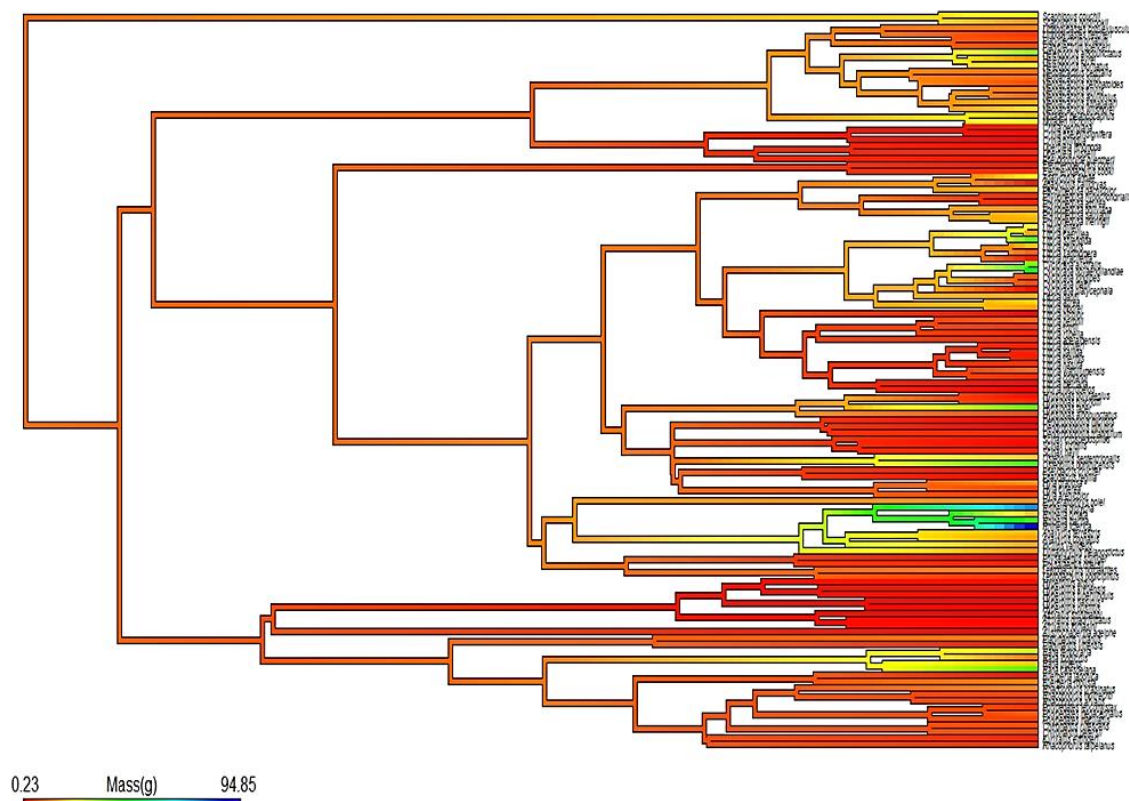


Figura 2. Árvore com atributo massa mapeado a partir de estados ancestrais.

Quanto a relação entre massa e a resistência cutânea, não encontramos relação significativa entre estes atributos (Figura 3). Isso também foi encontrado em estudo anterior em nível intraespecífico (Young et al. 2005), porém no presente estudo, analisamos essa relação de forma interespecífica com um grande número de espécies de diferentes ambientes. Além disso, uma variação sazonal na resistência cutânea pode ocorrer, com espécies em estação seca apresentando altos valores, além de mecanismos comportamentais que algumas espécies apresentam, tendem a ter alta resistência (Young et al. 2005). Isso pode ser devido às diferentes pressões ambientais sofridas pelas espécies nas diferentes configurações de habitat em que são encontradas e as diferentes metodologias utilizadas nos trabalhos, aos quais coletamos os dados. Outra ressalva é que a resistência varia com temperatura (Buttemer, 1990; Buttemer and

Thomas, 2003; Tracy et al., 2008) e densidade de vapor d'água (Wygoda, 1988), condições controladas de diferentes formas dos laboratórios entre os trabalhos.

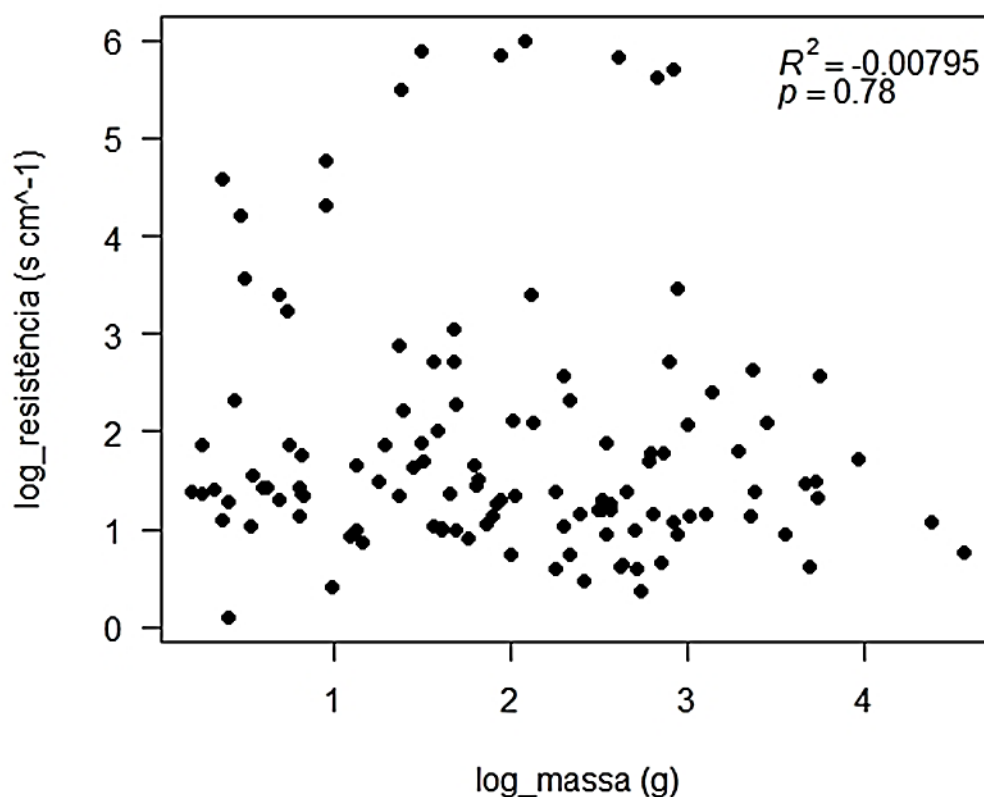


Figura 3. Correlação entre os atributos massa e resistência cutânea.

Quanto a análise de mudança na taxa evolutiva, encontramos que houve mudança significativa apenas dentro do clado das espécies do gênero *Litoria*, houve um aumento na taxa de evolução da massa no complexo *Litoria caerulea*, e outro aumento na taxa de evolução da resistência no complexo *Litoria lesueuri* (Figura 4).

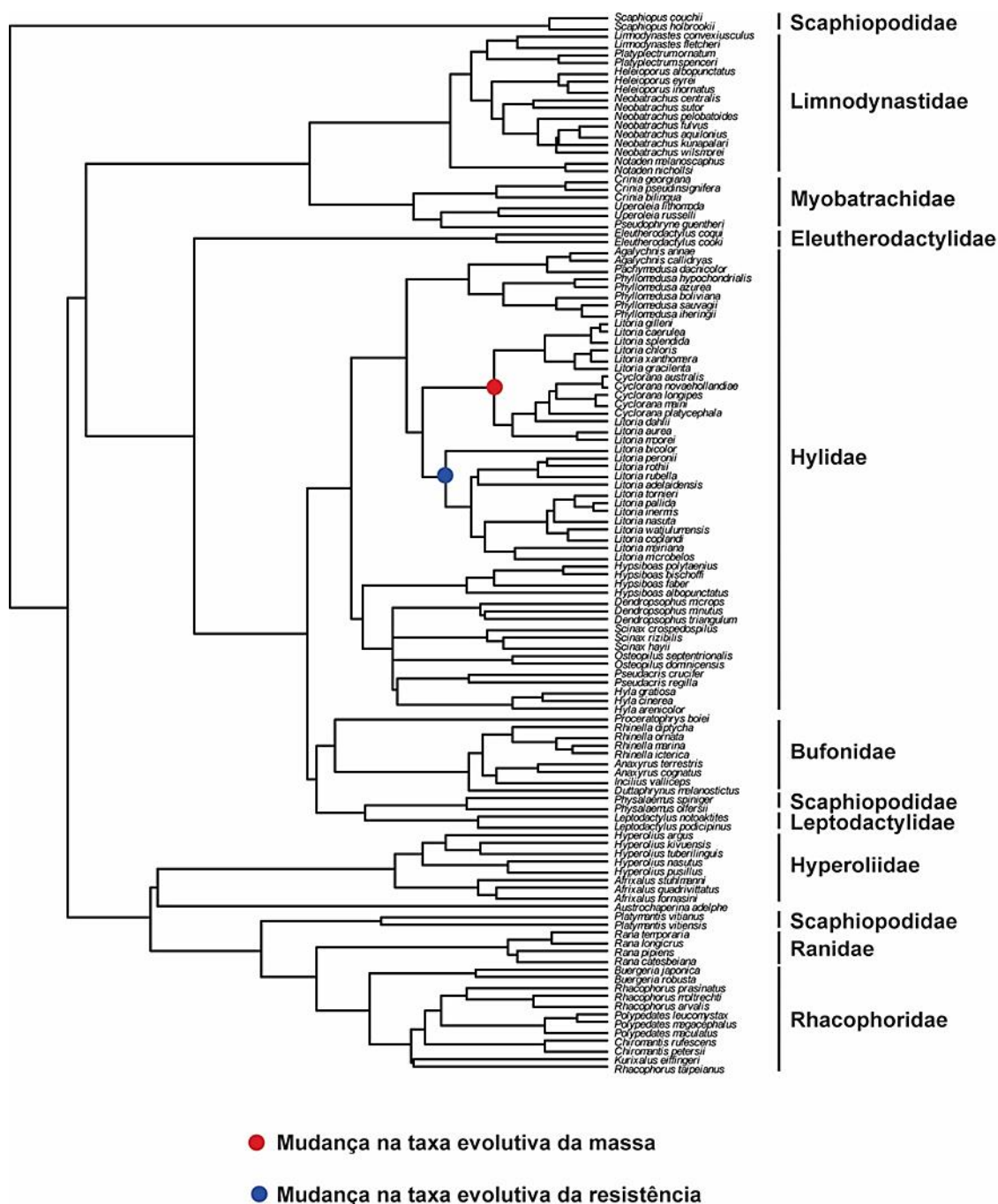


Figura 4. Árvore com nós em que ocorreram as maiores mudanças na taxa evolutiva.

Taxas evolutivas calculadas para os ramos da árvore que não pertencem ao clado das *Litoria* em verde, são contrastadas com as taxas para o clado das *Litoria* em azul (Figura 5a e Figura 6a). No lado direito, as taxas evolutivas de ramificações individuais do clado das *Litoria* são contrastadas com a taxa média computada sobre a árvore inteira (a linha vermelha vertical; Figura 5b e Figura 6b). Barras sem nomes correspondem aos nós internos do clado em questão. Este clado é um dos mais bem representados na

filogenia, e também se destaca entre os hilídeos, sendo o principal responsável por grande parte da mudança de ambos os traços na filogenia, ou seja, a taxa de evolução calculada para os ramos do clado das *Litoria* é igual ou, em alguns casos, difere muito da taxa média geral da árvore.

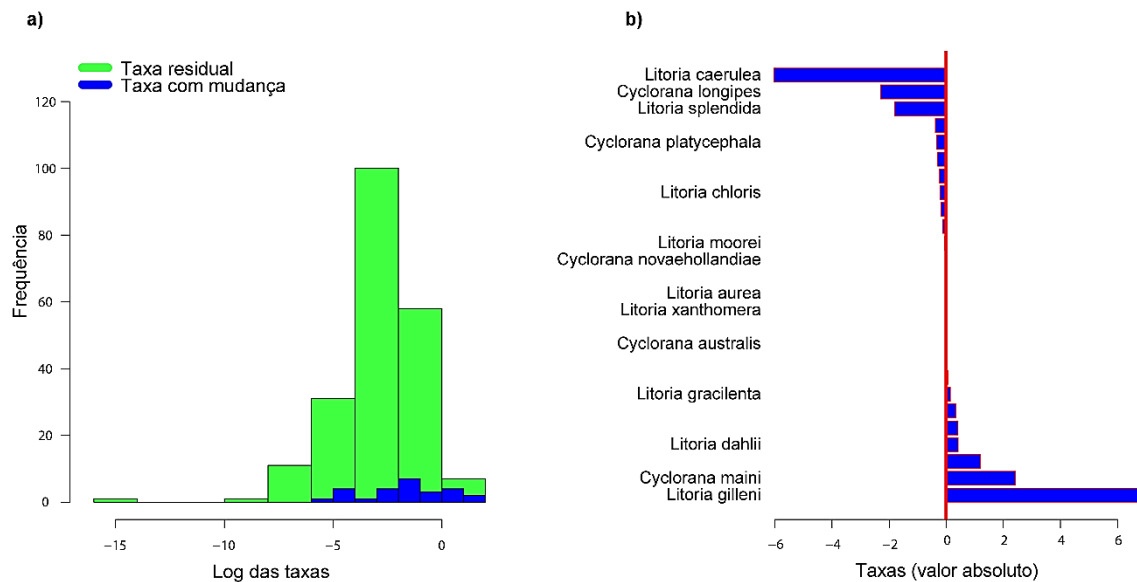


Figura 5. Taxas evolutivas da massa calculadas para toda árvore em contraste das taxas para o clado das *Litoria*.

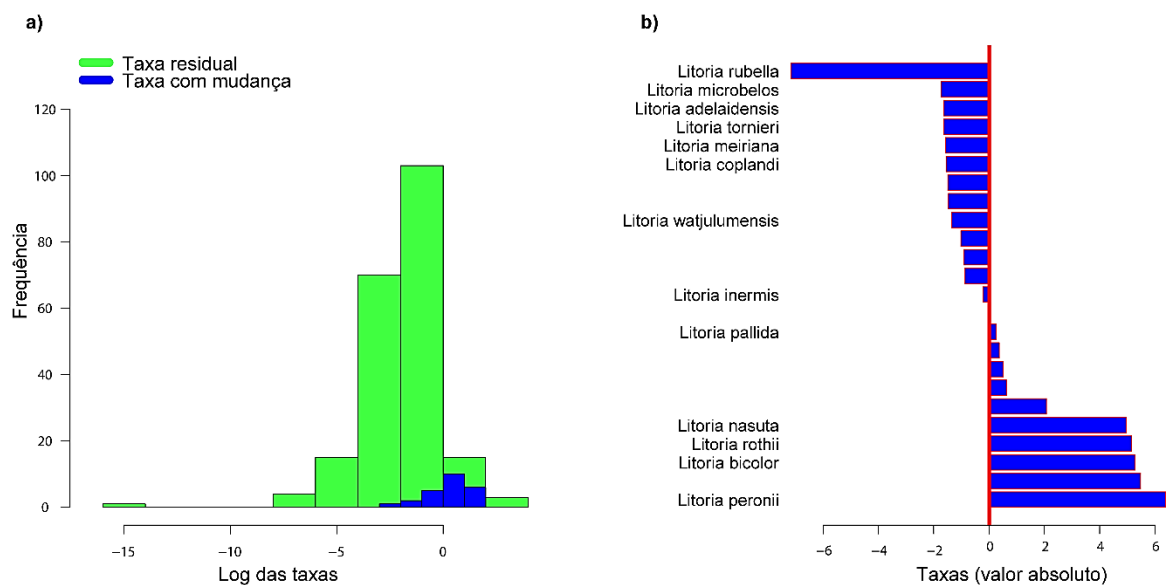


Figura 6. Taxas evolutivas da resistência calculadas para toda árvore em contraste das taxas para o clado das *Litoria*.

O gênero *Litoria* está distribuído ao longo de condições climáticas bastante contrastantes, na Austrália, incluindo florestas subtropicais e desertos (Duellman 1999). Essa distribuição ao longo de um gradiente intenso de condições climáticas explica a grande variação em atributos relacionados à economia de água, como tamanho corporal e resistência cutânea, bem como a forte pressão seletiva sofrida por esses atributos no clado, como refletido nas altas taxas de evolução fenotípica. Em concordância com o previsto por Gouveia et al. (2019), o aumento da massa no grupo *Litoria coerulea* reflete a maior pressão seletiva sobre organismos menores, a fim de reduzir a razão superfície-volume. Por outro lado, entre organismos maiores, o aumento da resistência cutânea foi favorecido entre as espécies do complexo *Litoria lesueuri*, que inclui as espécies *L. pallida* e *L. nasuta*.

5. Conclusões

Entre as espécies de anfíbios anuros para as quais que se conhecem as adaptações fisiológicas relacionadas à economia de água, encontramos sinal filogenético tanto para o tamanho corporal como para a resistência cutânea. Entretanto, esses atributos apresentam padrões de evolução distintos ao longo do clado, e não apresentaram correlação entre eles, como era esperado. Por fim, observamos que para um sub-clado do gênero *Litoria*, há rápidas mudanças tanto no tamanho corporal quanto na resistência cutânea, parte do clado aumentou a massa enquanto a outra parte aumentou a resistência. Em síntese, esses resultados reforçam a inter-relação entre o tamanho corporal e a resistência cutânea como adaptações importantes para a manutenção do balanço hídrico das espécies de anuros as quais influenciam a distribuição e a variação de espécies em grandes escalas geográficas e ao longo da evolução desse grupo.

6. Perspectivas de trabalhos futuros

Uma área para pesquisas futuras é entender as variações dos valores dos atributos encontrados em nosso estudo em função de variáveis ambientais, em um contexto geográfico, ou seja, espacialmente explícito. Esses efeitos geográficos e climáticas devem se somar ao componente evolutivo na determinação do padrão geral de evolução, variação e distribuição das espécies envolvidas, como um reflexo das adaptações fisiológicas dessas espécies.

7. Referências bibliográficas

- Bentley, P. J. e Main, A. R. (1972). Zonal differences in permeability of the skin of some anuran amphibia. *Am. J. Physiol.* 223, 361-363.
- Bentley, P. J. e Yorio, T. (1976). The passive permeability of the skin of anuran amphibia: a comparison of frogs (*Rana pipien*) and toads (*Bufo marinus*). *J. Physiol.* 261 603-615.
- Castiglione, S., Tesone, G., Piccolo, M., Melchionna, M., Mondanaro, A., Serio, C., Raia, P. (2018). A new method for testing evolutionary rate variation and shifts in phenotypic evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(4), 974–983.
- Chown, S. L., Gaston, K. J., e Robinson, D. (2004). Macrophysiology: large-scale patterns in physiological traits and their ecological implications. *Functional Ecology*, 18(2), 159–167.
- Duellman, W. E. (1999). Global distribution of amphibians: patterns, conservation, and future challenges (pp. 1-30). Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist*, 125, 1-15.
- Garland, T., e Carter, P. A. (1994). Evolutionary Physiology. *Annual Review of Physiology*, 56(1), 579–621.
- Gouveia, S. F., and Correia, I. 2016. Geographical clines of body size in terrestrial amphibians: Water conservation hypothesis revisited. *Journal of Biogeography* 43:2075 2084.
- Gouveia, S. F., Bovo, R. P., Rubalcaba, J. G., Da Silva, F. R., Maciel, N. M., Andrade, D. V., e Martinez, P. A. (2018). Biophysical Modeling of Water Economy Can Explain Geographic Gradient of Body Size in Anurans. *The American Naturalist*.
- Grafen A (1989) The phylogenetic regression. *Phil Trans R Soc B* 326:119–157.
- Hansen, T. F., e Orzack, S. H. (2005). Assessing current adaptation and phylogenetic inertia as explanations of trait evolution: The need for controlled comparisons. *Evolution*, 59(10), 2063–2072.
- Jetz, W., e Pyron, R. A. (2018). The interplay of past diversification and evolutionary isolation with present imperilment across the amphibian tree of life. *Nature Ecology e Evolution*, 2(5), 850–858.
- Lillywhite, H. B. (2006). Water relations of tetrapod integument. *Journal of Experimental Biology*, 209(2), 202–226.

- Loveridge J.P. (1970) Observations on nitrogenous excretion and water relations of *Chiromantis xerampelina* (Amphibia, Anura). *Arnoldia* 5, 14.
- Moen, D.S. e Wiens, J.J. (2009) Phylogenetic evidence for competitively driven divergence: body-size evolution in Caribbean treefrogs (Hylidae: *Osteopilus*). *Evolution*, 63, 195–214
- Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., e Jared, C. (2004). A preliminary assessment of anuran physiological and morphological adaptation to the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. *International Congress Series*, 1275, 298–305.
- Navas, C. A. (1996). Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108(4), 617–626.
- Nevo, E. (1973). Adaptive Variation in Size of Cricket Frogs. *Ecology*, 54(6), 1271–1281.
- Orme, D. 2011. The caper package: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R.
- Olalla-Tárraga, M. Á., Diniz-Filho, J. A. F., Bastos, R. P., e Rodríguez, M. Á. (2009). Geographic body size gradients in tropical regions: water deficit and anuran body size in the Brazilian Cerrado. *Ecography*, 32(4), 581–590.
- Paradis, E. (2012). *Analysis of Phylogenetics and Evolution with R*. New York, NY: Springer New York.
- Pianka, E. R., 1978. *Evolutionary Ecology*. New York: Harper and Row.
- R Development Core Team (2011) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Revell, L. J. (2012) phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol. Evol.*, 3, 217-223.
- Revell, L. J. 2013. Two new graphical methods for mapping trait evolution on phylogenies. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 754-759.
- Ruibal R. (1962) Osmoregulation in amphibians from heterosaline habitats. *Physiol. Zool.* 35, 133-147.
- Schmid WD (1965). Some aspects of the water economies of nine species of amphibians. *Ecology* 46:261–269.
- Shield, J.W. and P.J. Bentley (1973). Respiration of some urodele and anuran amphibia. I. In water, role of the skin and gills. *Comp. Biochem. Physiol.* 46A: 17-28.

- Shoemaker, V. H., M. A. Baker, and J. P. Loveridge. 1989. Effect of water balance on thermoregulation in waterproof frogs (*Chiromantis* and *Phyllomedusa*). *Physiological Zoology* 62:133–146.
- Spotila, J. R., and Berman, E. N. 1976. Determination of skin resistance and the role of the skin in controlling water loss in amphibians and reptiles. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology* 55:407–411.
- Titon, B., e Gomes, F. R. (2015). Relation between Water Balance and Climatic Variables Associated with the Geographical Distribution of Anurans. *PLOS ONE*, 10(10), e0140761.
- Titon, B., e Gomes, F. R. (2017). Associations of water balance and thermal sensitivity of toads with macroclimatic characteristics of geographical distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular e Integrative Physiology*, 208, 54–60.
- Tracy, C. R. 1975. Water and energy relations of terrestrial amphibians; insights from mechanistic models. Pages 325–346 in D. M. Gates and R. B. Schmerl, editors. *Perspectives in biophysical ecology*. Springer-Verlag, New York, New York, USA.
- Tracy, C. R. 1976. A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment. *Ecological Monographs* 46:293–326.
- Tracy, C. R., and K. A. Christian. 2005. Preferred temperature correlates with evaporative water loss in hyliid frogs from northern Australia. *Physiological and Biochemical Zoology* 78:839–846.
- Tracy, C.R., Christian, K.A. e Tracy, C.R. (2010) Not just small, wet, and cold: effects of body size and skin resistance on thermoregulation and arboreality of frogs. *Ecology*, 91, 1477–1484.
- Vitalis, T. Z. (1990). Pulmonary and cutaneous oxygen uptake and oxygen consumption of isolated skin in the frog, *Rana pipiens*. *Respiration Physiology*, 81(3), 391–399.
- Wells, K.D., 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. Univ. of Chicago Press.

8. Outras atividades

Participações em eventos e ações de extensão:

- Ecologia em ação na V SEMAC e no 10º EPG (2018)
- V SEMAC – 28º EIC/COPES – Redação Científica T5 (manhã)
- Curso básico de programação no software-livre R (ministrante)
- Curso de extensão em Atualidades em macroecologia

9. Apêndice

Espécies	Massa (g)	Resistência (s cm ⁻¹)	Referências
<i>Chiromantis petersii</i>	6	347	Withers et al., 1984
<i>Chiromantis rufescens</i>	7	404	Withers et al., 1984
<i>Rana pipiens</i>	18	1,6	Withers et al., 1984
<i>Afrixalus fornasini</i>	1,28	4,8	Withers et al., 1984
<i>Afrixalus quadrivittatus</i>	0,82	3,2	Withers et al., 1984
<i>Afrixalus stuhlmanni</i>	0,3	5,5	Withers et al., 1984
<i>Hyperolius pusillus</i>	0,65	34,2	Withers et al., 1984
<i>Hyperolius tuberilinguis</i>	1	29,2	Withers et al., 1984
<i>Hyperolius kivuensis</i>	1,6	73,5	Withers et al., 1984
<i>Hyperolius argus</i>	1,1	24,5	Withers et al., 1984
<i>Anaxyrus cognatus</i>	14	1,7	Withers et al., 1984
<i>Hyla arenicolor</i>	5	4,2	Withers et al., 1984
<i>Osteopilus septentrionalis</i>	17,58	1,91	Withers et al., 1984
<i>Litoria gracilentia</i>	1,6	118	Withers et al., 1984
<i>Litoria caerulea</i>	9	1,8	Withers et al., 1984
<i>Phyllomedusa azurea</i>	3	242	Withers et al., 1984
<i>Agalychnis callidryas</i>	1,3	2,8	Withers et al., 1984
<i>Polypedates leucomystax</i>	4,4	14	Wygoda, 1984
<i>Rana catesbeiana</i>	39,18	0,84	Wygoda, 1984
<i>Rana temporaria</i>	28,55	3	Wygoda, 1984
<i>Anaxyrus terrestris</i>	16,37	0,93	Wygoda, 1984
<i>Hyla cinerea</i>	5,17	3,54	Wygoda, 1984
<i>Hyla gratiosa</i>	13,32	3	Wygoda, 1984
<i>Pseudacris crucifer</i>	1,25	2,15	Wygoda, 1984
<i>Osteopilus dominicensis</i>	40,75	2,74	Wygoda, 1984
<i>Dendropsophus triangulum</i>	4,23	2,92	Wygoda, 1984
<i>Phyllomedusa iheringii</i>	16	277	Wygoda, 1984
<i>Phyllomedusa boliviana</i>	12,7	336	Wygoda, 1984
<i>Phyllomedusa hypochondrialis</i>	3,5	364	Wygoda, 1984
<i>Pachymedusa dacnicolor</i>	17,2	14	Wygoda, 1984
<i>Agalychnis annae</i>	22,1	10	Wygoda, 1984
<i>Scaphiopus holbrookii</i>	12,86	0,85	Wygoda, 1984
<i>Scaphiopus couchii</i>	25,85	5	Wygoda, 1984
<i>Austrochaperina adelphe</i>	0,39	3,1	Young et al., 2005
<i>Rhinella marina</i>	40,3	3,4	Young et al., 2005
<i>Litoria microbelos</i>	0,23	3	Young et al., 2005
<i>Litoria meiriana</i>	0,87	3,2	Young et al., 2005

<i>Litoria coplandi</i>	3,79	14	Young et al., 2005
<i>Litoria watjulumensis</i>	8,99	12	Young et al., 2005
<i>Litoria nasuta</i>	4,45	8,8	Young et al., 2005
<i>Litoria inermis</i>	2,11	4,2	Young et al., 2005
<i>Litoria pallida</i>	3,02	8,2	Young et al., 2005
<i>Litoria tornieri</i>	2,66	5,4	Young et al., 2005
<i>Litoria rubella</i>	2,94	17	Young et al., 2005
<i>Litoria rothii</i>	4,36	20	Young et al., 2005
<i>Litoria bicolor</i>	0,62	66	Young et al., 2005
<i>Litoria dahlia</i>	15,3	4,9	Young et al., 2005
<i>Cyclorana longipes</i>	7,41	7,1	Young et al., 2005
<i>Cyclorana australis</i>	30,5	7,1	Young et al., 2005
<i>Litoria splendida</i>	41,6	12	Young et al., 2005
<i>Litoria gilleni</i>	28	12,8	Young et al., 2005
<i>Uperoleia lithomoda</i>	1,27	2,9	Young et al., 2005
<i>Crinia bilinea</i>	0,3	2,9	Young et al., 2005
<i>Notaden melanoscaphus</i>	16,5	4,9	Young et al., 2005
<i>Platyplectron ornatum</i>	6,49	7,2	Young et al., 2005
<i>Limnodynastes convexiusculus</i>	11,7	5,6	Young et al., 2005
<i>Incilius valliceps</i>	14,12	0,82	Wygoda, 1988
<i>Litoria adelaidensis</i>	3,9	6,5	Withers, 1998
<i>Litoria moorei</i>	14,4	0,45	Withers, 1998
<i>Cyclorana platycephala</i>	0,7	1,8	Withers, 1998
<i>Cyclorana maini</i>	5,7	2,1	Withers, 1998
<i>Cyclorana novaehollandiae</i>	51,7	4,6	Withers, 1998
<i>Pseudophryne guentheri</i>	2,1	1,7	Withers, 1998
<i>Uperoleia russelli</i>	4	1,7	Withers, 1998
<i>Crinia pseudinsignifera</i>	1	2,7	Withers, 1998
<i>Crinia georgiana</i>	2,2	1,4	Withers, 1998
<i>Notaden nichollsi</i>	27,6	2,1	Withers, 1998
<i>Neobatrachus wilsmorei</i>	19,4	2,1	Withers, 1998
<i>Neobatrachus kunapalari</i>	15,6	2,2	Withers, 1998
<i>Neobatrachus aquilonius</i>	8,6	0,8	Withers, 1998
<i>Neobatrachus fulvus</i>	11,4	2,7	Withers, 1998
<i>Neobatrachus pelobatoides</i>	6,4	1,1	Withers, 1998
<i>Neobatrachus sutor</i>	9,4	1,1	Withers, 1998
<i>Neobatrachus centralis</i>	10	2,2	Withers, 1998
<i>Heleioporus inornatus</i>	21,2	2,2	Withers, 1998
<i>Heleioporus eyrei</i>	11,4	2,5	Withers, 1998
<i>Heleioporus albopunctatus</i>	34,1	1,6	Withers, 1998

<i>Platyplectrum spenceri</i>	6,6	2,8	Withers, 1998
<i>Litoria aurea</i>	19,1	6,9	Buttemer et al., 1996
<i>Litoria chloris</i>	18,1	31,09	Buttemer, 1990
<i>Litoria peronii</i>	9,3	9,21	Amey and Grigg, 1995
<i>Limnodynastes fletcheri</i>	4,8	1,46	Amey and Grigg, 1995
<i>Litoria xanthomera</i>	7,3	28,8	Buttemer and Thomas, 2003
<i>Hyperolius nasutus</i>	0,45	96	Withers et al., 1982
<i>Pseudacris regilla</i>	0,45	2	Withers et al., 1982
<i>Phyllomedusa sauvagii</i>	17,5	300	Withers et al., 1982
<i>Polypedates maculatus</i>	5,5	1,9	Lillywhite et al., 1997
<i>Rhacophorus taipeianus</i>	3,8	1,8	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Kurixalus eiffingeri</i>	3,3	4,1	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Polypedates megacephalus</i>	8,6	3	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Rhacophorus arvalis</i>	5,1	3,3	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Rhacophorus moltrechti</i>	6	2,7	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Rhacophorus prasinatus</i>	11,5	2,3	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Buergeria robusta</i>	11,7	1,6	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Buergeria japonica</i>	1,7	0,5	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Rana longicrus</i>	10,2	0,6	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	12,9	0,9	Jian-Nan Liu, 2012
<i>Eleutherodactylus cooki</i>	4	1,77	Rogowitz, 1999
<i>Eleutherodactylus coqui</i>	2	1,53	Rogowitz, 1999
<i>Platymantis vitiensis</i>	2,5	3,4	Young, 2006
<i>Platymantis vitianus</i>	11,1	2,3	Young, 2006
<i>Dendropsophus minutus</i>	0,59	7,59	Gouveia, 2019
<i>Dendropsophus microps</i>	0,55	9,23	Titon, 2015
<i>Scinax rizibilis</i>	0,72	3,76	Titon, 2015
<i>Scinax crospedospilus</i>	1,25	3,13	Titon, 2015
<i>Scinax hayii</i>	3,51	4,42	Titon, 2015
<i>Hypsiboas albopunctatus</i>	5,86	2,54	Titon, 2015
<i>Hypsiboas faber</i>	38,25	3,34	Titon, 2015
<i>Hypsiboas bischoffi</i>	3,5	5,6	Titon, 2015
<i>Hypsiboas polytaenius</i>	1,12	5,46	Titon, 2015
<i>Proceratophrys boiei</i>	11,96	2,35	Titon, 2015
<i>Leptodactylus notoaktites</i>	12,09	2,53	Titon, 2015
<i>Leptodactylus podicipinus</i>	4,46	1,7	Titon, 2015
<i>Physalaemus olfersii</i>	2,96	2,85	Titon, 2015
<i>Physalaemus spiniger</i>	0,5	2,63	Titon, 2015
<i>Rhinella ornata</i>	15,2	4,43	Titon, 2015

<i>Rhinella icterica</i>	94,85	1,16	Titon, 2015
<i>Rhinella schneideri</i>	78,48	1,96	Titon, 2015
